

## BIODEGRADASI LIGNIN DALAM PENCUCIAN LIMBAH KAYU

**Novirina Hendrasarie dan Reza**

Lecturer, Environmental Engineering Department

Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jatim, Indonesia

e-mail : hendrasarie@yahoo.com

### ABSTRAK

*Proses biodegradasi mampu mengubah hampir semua bahan organik terlarut dan koloid tersisa dimetabolisme oleh mikroorganisme menjadi karbondioksida dan air. Proses pencucian kayu berdampak pada kualitas air yang mengandung lignin dan warna yang sangat pekat, sehingga mencemari badan air. Tujuan dari penelitian ini adalah biodegradasi lignin dari limbah cair pencucian kayu sebelum dibuang ke badan air dan identifikasi bakteri pendegradasi lignin. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi efisiensi penurunan lignin dan warna pada proses activated sludge, diantaranya adalah waktu tinggal, rasio resirkulasi. Penelitian ini menggunakan proses activated sludge dengan variasi rasio resirkulasi 0.25, 0.35, 0.45, 0.55, 0.65 dan variasi waktu tinggal 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam, 6 jam. Dari hasil penelitian ini dapat diketahui proses activated sludge dapat menurunkan lignin dan warna. Untuk lignin dengan variasi waktu tinggal 6 jam dan rasio resirkulasi 0.65 dengan efisiensi removal 97.63 %, untuk warna dengan variasi waktu tinggal 6 jam dan rasio resirkulasi 0.65 dengan efisiensi removal 98,72 % dan hasil dari identifikasi bakteri ditemukan 2 jenis bakteri yaitu : bakteri *Cytophaga* dan *Chitinophaga*.*

**Kata Kunci:** lignin, limbah, biodegradasi

### 1.PENDAHULUAN

Air buangan pencucian kayu mengandung lignin sehingga air akan berwarna coklat dan bau tak sedap yang mencemari badan air. Pada proses pencucian kayu membutuhkan air dalam jumlah yang cukup besar, hal ini dapat mengancam kelestarian habitat di sekitarnya karena mengurangi ketersediaan air bagi kehidupan hewan air dan merubah suhu air. Lignin mengganggu ekosistem air sehingga dapat mempengaruhi jaringan insang pada ikan (Dahaplia, 1998). Pengolahan limbah kayu pada industri kayu biasanya menggunakan chlorin sebagai proses penghilangan lignin dimana proses ini menimbulkan dampak yang baru dan sangat berbahaya bagi ekosistem air.

Adapun tujuan dari pengolahan air buangan secara biologi adalah menyisihkan atau menurunkan konsentrasi senyawa-senyawa organik maupun anorganik dengan memanfaatkan berbagai mikroorganisme, terutama bakteri (Metcalf & Eddy, 1979). Proses lumpur aktif (*activated sludge*) mampu mengubah hampir semua bahan organik terlarut dan koloid tersisa dimetabolisme oleh mikroorganisme menjadi karbondioksida dan air. Dalam penelitian ini, akan digunakan proses aerob untuk mendegradasi lignin dari limbah pencucian kayu agar tidak tercemar. Tujuan dari penelitian ini adalah : Biodegradasi lignin dari limbah pencucian kayu sebelum dibuang ke badan air sehingga tidak menimbulkan pencemaran pada air, dan mengidentifikasi jenis bakteri yang mampu mendegradasi lignin dari hasil proses activated sludge limbah pencucian kayu.

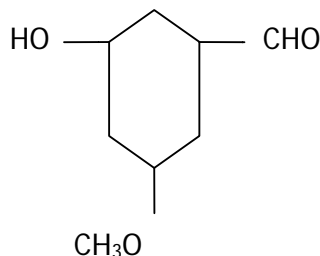
### Lignin

Lignin ditemukan dalam hampir semua tanaman, baik pada fern, gymnosperma maupun angiosperma. Bakteri, algae dan fungi/jamur tidak mengandung lignin. Lignin dalam tumbuhan merupakan substansi yang tidak larut. Isolasi lignin dari kayu telah menarik perhatian peneliti sejak beberapa tahun. Untuk penentuan kualitas lignin dalam kayu, selulosa dan hemiselulosa didegradasi dengan hidrolisa asam sulfat yang kuat terhadap molekul gula yang rendah, dan sisanya residu coklat tua ditetapkan menjadi lignin. Persentase komposisi lignin sudah ditentukan dengan ketelitian secukupnya, untuk kayu jarum susunannya kira-kira sebagai berikut:

C = 63,5%, H = 6,0%, Methoxyl = 15,0%.

Kebanyakan ahli kimia lignin sependapat, bahwa molekul lignin mengandung inti aromatis. Beberapa ahli beranggapan, bahwa molekul lignin tidak mengandung inti aromatis, melainkan inti yang mudah dirubah jadi senyawa aromatis.

Adanya inti bensen dalam lignin ditunjukkan oleh terjadinya senyawa aromatis pada degradasi aljalis atau oksidasi. Misalnya, sampai 8% vanilin diperoleh pada hodrolise alkalis dari asam lignosulfonat, dan paling sedikit 20% vanilin diperoleh pada oksidasi lignin kayu jarum dengan alkali nitrobenzen.



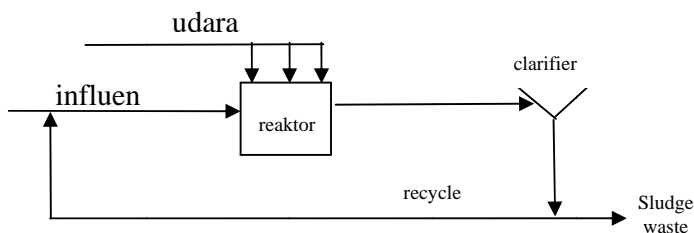
Gambar 1. Gugus Penyusun Lignin

Adanya inti bensen dibuktikan juga pada hydrogenasi lignin oleh Harris dkk yang mendapatkan 1 – propyl – 4 cyclohexanol, 1 – propyl – 3,4 – cyclohexanediol, dan 3 – (4 – hydroxycyclohexyl) – 1 propanol dengan menggunakan lignin 50%.

### Pengolahan Biologi Secara Activated Sludge

Proses lumpur aktif (*activated sludge*) mampu mengubah hampir semua bahan organik terlarut dan koloid tersisa dimetabolisme oleh mikroorganisme menjadi karbondioksida dan air. Dan fraksi terbesar diubah menjadi massa selular yang dapat dipisahkan dari aliran air melalui pengendapan secara gravitasi. Pada umumnya waktu tinggal dan rasio resirkulasi sangat berpengaruh pada activated sludge yaitu pada rasio resirkulasi 0.25 sampai 0.65 dengan waktu tinggal 2 sampai 6 jam (Metcalf & Eddy, 1979).

Secara garis besar, proses-proses yang berlangsung dalam activated sludge ialah: Aerasi air limbah untuk menghadirkan suspensi microbial, Pemisahan solid-liquid setelah aerasi, Discharge effluen ke clarifier, Membuang excess biomassa dan mengembalikan yang tersisa ke dalam tangki aerasi



Gambar 3. Sistem Activated Sludge

### Mikroorganisme Pendegradasi Lignin

Degradasi lignin membutuhkan enzim ekstraseluler yang tak spesifik karena lignin mempunyai struktur acak dengan berat molekul yang tinggi. Lignin biasanya terakumulasi selama proses degradasi lignoselulosa. Degradasi lignin oleh bakteri seperti *Streptomyces* sp dan *Actinomycetes* terjadi seperti oksidasi yang dilakukan oleh kapang pelapuk putih, bakteri mampu mendegradasi lignin secara efektif.

### Faktor Yang Mempengaruhi Mikroorganisme Mendegradasi Limbah

Faktor-faktor pertumbuhan mikroba dapat ditemukan di dalam tanah sekitar yang tercemar dan lingkungan sekitarnya. Beberapa faktor yang mempengaruhi proses pertumbuhan mikroorganisme adalah :

**pH**, mempengaruhi kemampuan mikroorganisme untuk mengatur fungsi selular, transport membrane, dan kesetimbangan reaksi katalis. Menurut Baker dan Herson (1994), umumnya mikroorganisme

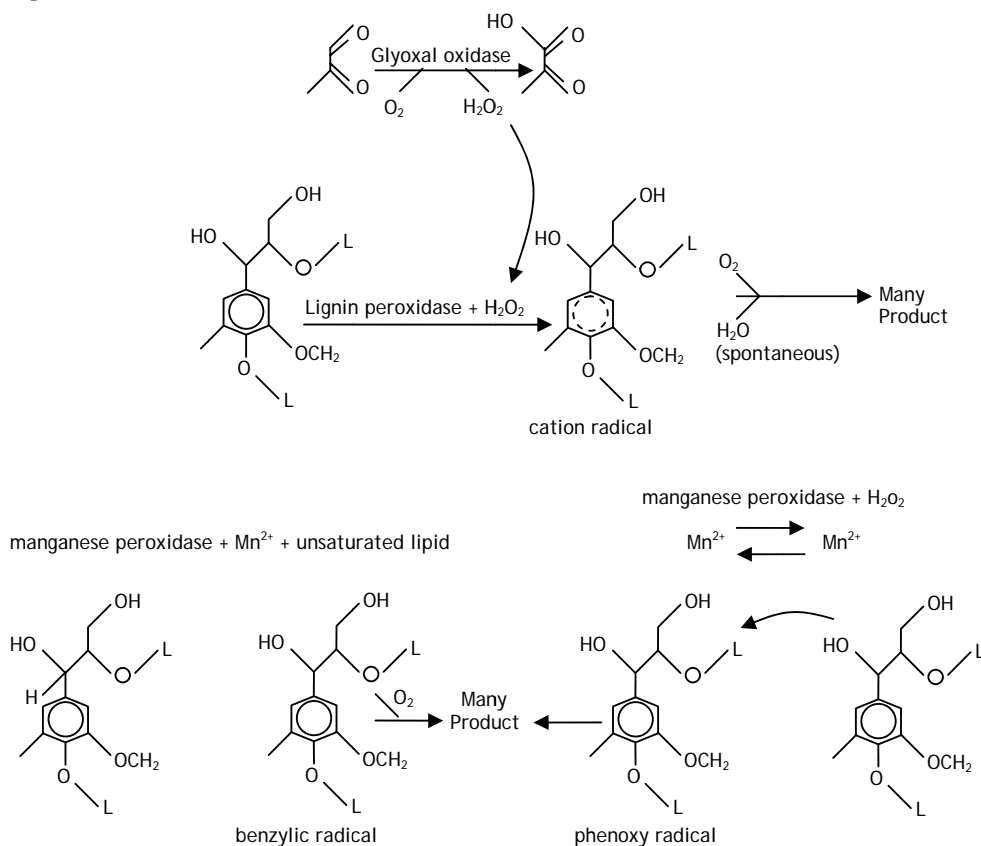
tumbuh pada pH sekitar 6,0 – 8,0. Sedangkan pH 7,8 merupakan pH optimal bagi mikroorganisme pendegradasi bahan organik (hidrokarbon) di dalam air

**Temperatur**, berpengaruh pada proses biodegradasi. Proses biologi biasanya meningkat seiring dengan kenaikan temperature (Baker dan Herson, 1994). Sekelompok bakteri menunjukkan toleransi yang besar terhadap suhu. Terdapat kelompok bakteri yang mampu tumbuh pada temperatur di bawah 0°C sampai dengan diatas 100°C, namun dengan air yang cukup.

**Ketersediaan Oksigen**, restirasi secara aerob, umunya lebih efisien daripada respirasi secara anaerobik, sistem secara aerob biasanya lebih dipilih untuk proses pemulihan lahan. Aerasi dengan cara pengadukan (agitasi) berfungsi untuk memenuhi kebutuhan oksigen, menjaga agar mikroorganisme tetap tersuspensi, dan menjaga agar larutan tetap homogeni.

#### Mekanisme Degradasi Lignin

Mikroorganisme mendegradasi lignin menjadi produk yang larut dalam air dan CO<sub>2</sub> (Boyle, 1992). Mekanisme teknik ini adalah menginteraksikan dalam sebuah reaktor biologis teraerasi, air limbah dengan mikroorganisme tersuspensi yang akan memakan polutan (lignin) dan memecah unit non fenolik lignin tersebut. Mikroorganisme tersuspensi ini kemudian membentuk flok-flok bakterian. Campuran kemudian masuk kedalam bak pengendap dimana akan terpisahkan antar air bersih dengan mikroorganisme dalam lumpur.



Gambar 4 .Skema Sistem Degradasi Lignin Oleh *Phanerochaete chrysosporium*

#### 2.METODE PENELITIAN

Sebelum melaksanakan penelitian utama, maka dilaksanakan persiapan pendahuluan yaitu dengan menganalisa terlebih dahulu karakteristik limbah pencucian kayu.

##### Variabel Yang Digunakan

Dalam penelitian ini menggunakan variabel tetap dan variabel berubah.

##### a. Variabel Tetap

Pelaksanaan penelitian ini memiliki beberapa ketetapan, antara lain :

a. Debit : 0.25 lt/menit, dengan nutrien : BOD : N : P = 100 : 10 : 1

b. Pada proses ini, dijaga pada suhu rentang 25°C - 40°C dan pH 6 – 9

### b. Variabel Berubah

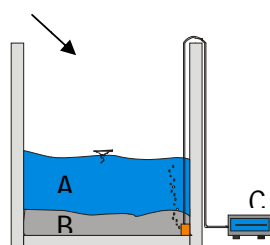
Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Waktu tinggal (Jam) : 2, 3, 4, 5, 6
2. Rasio resirkulasi (R) : 0.25, 0.35, 0.45, 0.55, 0.65

### Prosedur Penelitian

#### a. Seeding dan Aklimatisasi

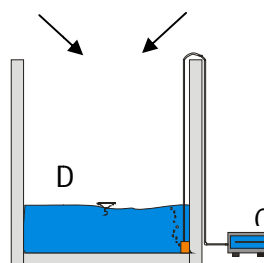
BOD : N : P = 100 : 10 : 1



Reaktor A

BOD : N : P

Air limbah



Reaktor B

Keterangan alat :

- A : Aquadest  $\pm$  1 liter
- B : Lumpur dari activated sludge
- C : Aerator
- D : Air hasil saringan dari reaktor A

Seeding dilakukan untuk memperoleh sejumlah massa biologis yang cukup untuk berperan dalam proses penurunan kandungan organik sedangkan aklimatisasi bertujuan mendapatkan suatu kultur yang sangat baik dari mikroorganisme dan mampu beradaptasi dengan air limbah pencucian kayu yang akan diolah.

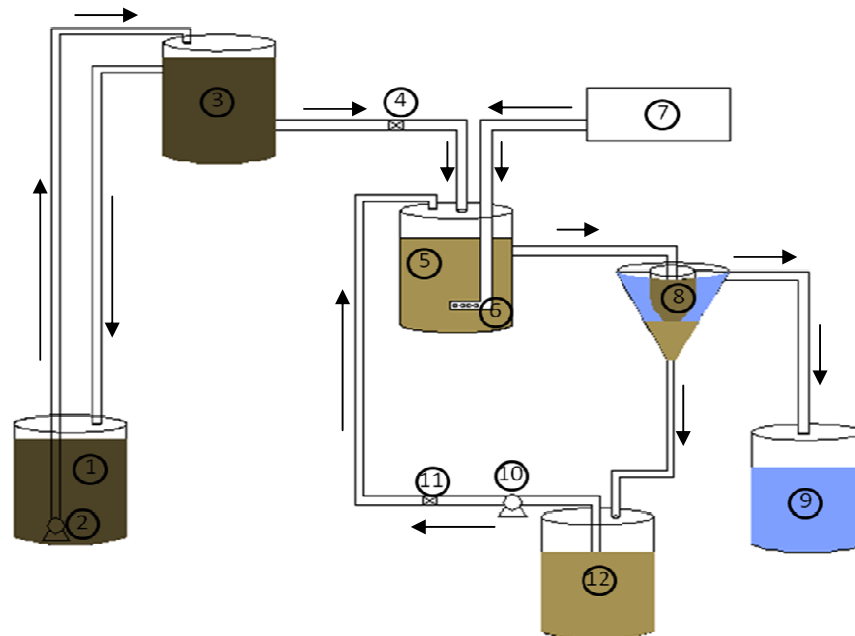
#### Cara Kerja Reaktor A :

1. Mempersiapkan reaktor A yang telah diisi aquadest sebanyak  $\pm$ 1 liter dan lumpur dari activated sludge.
2. Melakukan aerasi pada reaktor yang telah berisi air dan lumpur .
3. Selama proses aerasi tambahkan BOD : N : P kedalam reaktor. Dilakukan 3 hari
4. Setelah  $\pm$  3 hari, lakukan penyaringan untuk memisahkan antara air dengan lumpur. Kemudian dipindahkan air yang tersaring kedalam tempat / reaktor B untuk dikembangkan bakteri yang terdapat didalamnya.

#### Cara Kerja Reaktor B :

1. Mempersiapkan reaktor yang telah diisi air dari proses penyaringan reaktor A.
2. Melakukan aerasi pada reaktor. Selama proses aerasi, tambahkan BOD : N : P = 100 : 10 : 1.
3. Penambahan BOD : N : P juga diiringi dengan penambahan air limbah pencucian kayu sedikit demi sedikit sebagai pengganti sumber karbon. Pada saat penambahan air limbah pencucian kayu, perbandingan penambahan karbon dikurangi . Diharapkan pada akhirnya bakteri mampu menggunakan air limbah pencucian kayu sebagai sumber karbonnya.

## b. Activated Sludge



Gambar 5. Proses Kerja Activated Sludge

Keterangan gambar alat :

1. Bak Penampung Limbah 1
2. Pompa
3. Bak Penampung Limbah 2
4. Valve
5. Bak Distribusi Aerasi
6. Aerator
7. Super Pumpf SP-780
8. Clarifier
9. Bak Penampung Hasil
10. Pompa
11. Valve
12. Bak Penampung Lumpur

### Cara Kerja Alat Activated Sludge

1. Limbah dari pencucian kayu ditampung dalam bak penampung limbah.
2. Dari bak penampung limbah dialirkan kedalam bak distribusi aerasi secara gravitasi.
3. Dari bak distribusi aerasi kemudian dialirkan kedalam clarifier secara gravitasi, Kemudian dari clarifier bagian bawah di resirkulasi menggunakan pompa ke dalam bak distribusi aerasi.
4. Dari clarifier bagian atas dialirkan secara gravitasi kedalam bak penampung hasil.

### Parameter Yang Dianalisa

Dalam penelitian ini parameter yang dianalisa adalah Lignin dan warna.

## 3.HASIL DAN PEMBAHASAN

### Biodegradasi Lignin Dengan Variasi Rasio Resirkulasi dan Waktu Tinggal

Penyisihan lignin dilakukan dengan pengolahan activated sludge secara kontinyu, dengan memvariasi rasio resirkulasi dan waktu tinggal. Data yang diperoleh ini diolah untuk mendapatkan kondisi optimum dari beberapa variasi percobaan yang dilakukan. Dibawah ini adalah hasil dari penelitian yang ditabelkan sebagai berikut:

Tabel 1. Pengaruh Rasio Resirkulasi dan Waktu Tinggal Dalam Menurunkan Konsentrasi Lignin Dari Limbah Pencucian Kayu

Waktu Tinggal (td) Rasio Resirkulasi (R)	Penyisihan Lignin(%)				
	0.25	0.35	0.45	0.55	0.65
<b>2 jam</b>	<b>89.75</b>	<b>89.94</b>	<b>90.08</b>	<b>90.17</b>	<b>90.20</b>
3 jam	90.84	90.95	91.02	91.13	91.16
4 jam	92.78	92.81	92.90	93.04	93.08
5 jam	94.42	94.63	94.78	94.90	95.04
6 jam	96.62	96.97	97.06	97.43	97.63

Berdasarkan hasil analisa diatas tentang konsentrasi lignin yang telah didapat dari proses activated sludge, didapatkan konsentrasi penyisihan kadar lignin terbaik adalah dengan rasio resirkulasi 0.65 dengan waktu tinggal 6 jam . Melihat hasil proses yang terjadi, maka activated sludge dipengaruhi oleh waktu tinggal dan rasio resirkulasi. Rasio resirkulasi 0.65 dan waktu tinggal 6 jam adalah hasil yang paling optimum dalam mendegradasi lignin hal ini disebabkan karena jumlah bakteri yg dikembalikan dalam tangki aerasi mencukupi asupan makanan untuk mikroorganisme, maka semakin besar rasio resirkulasi yang dikembalikan dalam tangki aerasi maka bakteri akan secara optimal mendegradasi limbah dan waktu yang lama sesuai dengan kriteria activated sludge merupakan faktor utama dalam mendegradasi limbah.

#### Biodegradasi Warna Dengan Variasi Rasio Resirkulasi dan Waktu Tinggal

Penyisihan warna dilakukan dengan pengolahan activated sludge secara kontinyu, untuk melihat pengaruh rasio resirkulasi dan waktu tinggal. Data yang diperoleh ini diolah untuk mendapatkan kondisi optimum dari beberapa variasi percobaan yang dilakukan. Dibawah ini adalah hasil dari penelitian yang ditabelkan sebagai berikut:

Tabel 2. Rasio Resirkulasi dan Waktu Tinggal Dalam Menurunkan Konsentrasi Warna Dari Limbah Pencucian Kayu

Waktu Tinggal (td) Rasio Resirkulasi	Penyisihan Warna (%)				
	0.25	0.35	0.45	0.55	0.65
2 jam	95.35	95.51	95.54	95.69	95.73
3 jam	96.31	96.40	96.49	96.55	96.60
4 jam	96.95	96.95	96.98	97.02	97.11
5 jam	97.80	97.81	97.85	97.91	98.04
6 jam	98.17	98.35	98.56	98.66	98.72

Berdasarkan hasil analisa diatas tentang konsentrasi warna yang telah didapat dari proses activated sludge, didapatkan konsentrasi penyisihan kadar warna terbaik adalah dengan rasio resirkulasi 0.65 dengan waktu tinggal 6 jam . Dari hasil diatas tersebut diketahui bakteri bekerja dengan stabil pada waktu tinggal 4 dan 5 jam tanpa dipengaruhi oleh rasio resirkulasi. Selisih yang sangat kecil antara waktu tinggal dengan % removal warna pada berbagai rasio resirkulasi Dapat dijelaskan juga semakin lama waktu tinggal maka semakin besar nilai removal warna dengan pengaruh yang sangat kecil pada bebragai rasio resirkulasi.

#### Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lignin dan Warna

Penelitian ini dilakukan untuk menyisihkan konsentrasi lignin dan warna dengan proses activated sludge . Dalam penelitian ini bakteri yang digunakan berasal dari isolasi lumpur activated sludge. Dari hasil identifikasi bakteri didapatkan bakteri *Cytophaga* dan *Chitinophaga* sebagai pendegradasi lignin dan warna limbah pencucian kayu. Limbah cair yang digunakan berasal dari pencucian kayu. Bakteri *Cytophaga* dan *Chitinophaga* tidak termasuk dalam kelompok *Ascomycetes* dan *Streptomyces*, bakteri ini tidak pernah

digunakan dalam pengolahan limbah khususnya limbah lignin dan warna dari proses pencucian kayu. Bakteri ini mampu menyisihkan lignin dan warna dari limbah pencucian kayu.

#### 1. *Cytophaga*

Dalam penelitian ini bakteri yang didapat terdapat dalam klasifikasi : Genus : *Cytophaga*, Ordo : *Pseudomonadales*, Family : *Phaganoceae*. Bakteri *Cytophaga* merupakan bakteri mesofil karena bakteri ini hidup didaerah suhu antara 15° - 55° C, dengan suhu optimum 25° - 40° C dan termasuk bakteri aerob, hidup pada pH 6 sampai 9. Membran sel bakteri mengandung  $\pm$  45% lipida dan 55% protein, lipida menyelubungi secara kontinyu dan non polar. Bakteri *Cytophaga* menyebabkan penyakit pada ikan yang menyerang sirip sehingga terjadi pembusukan pada sirip ikan ( Darmayanti, Y dan Suharman, 2001).

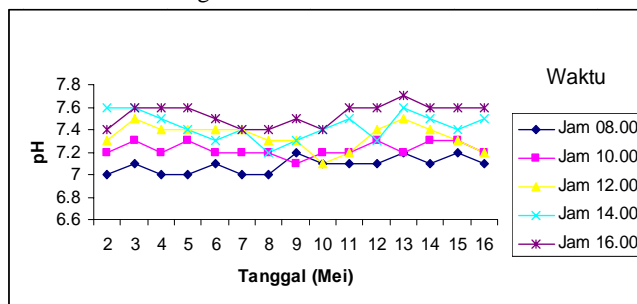
#### 2. Bakteri *Chitinophaga*

Dalam penelitian ini bakteri yang didapat terdapat dalam klasifikasi : Genus : *Chitinophaga*, Ordo : *Pseudomonadales*, Family : *Phaganoceae*. Bakteri *Chitinophaga* merupakan bakteri mesofil karena bakteri ini hidup didaerah suhu antara 15° - 55° C, dengan suhu optimum 25° - 40° C dan termasuk bakteri aerob, hidup pada pH 6 sampai 9. Bakteri ini dapat merayap walaupun tidak berflagela, bakteri ini bersifat gram negatif (Hugenholtz P, et. al, 1998). Bakteri *Chitinophaga* merupakan bakteri uniseluler dan mempunyai bentuk batang yang pendek.

### pH, Suhu dan Pertumbuhan Bakteri Pada Proses Biodegradasi Lignin dan Warna Dalam Activated Sludge

Pengolahan limbah pencucian kayu pada reaktor activated sludge dengan menggunakan bakteri berpengaruh pada pH dan suhu. pH dan suhu ini di pantau setiap hari untuk mengetahui pengaruh bakteri terhadap penyisihan lignin dan warna.

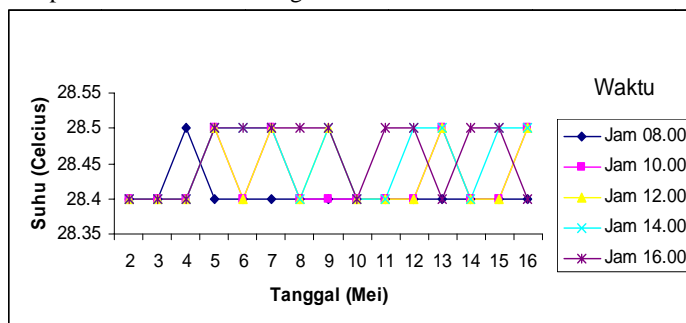
#### 1. pH Terhadap Proses Activated Sludge



Gambar 8. Hubungan Antara pH Dengan Berbagai Waktu Pada Pengolahan Limbah Pencucian Kayu.

pH yang diatur pada tahap proses activated sludge pada minggu ke 10 dan 11 setelah jumlah MLSS yang mewakili jumlah bakteri mencapai fase stationer, dimana bakteri ini sudah dapat dijadikan acuan dalam proses biodegradasi lignin dan warna dalam activated sludge. Hal ini disebabkan oleh pengaruh adaptasi limbah dengan bakteri dalam penyisihan lignin dan warna. Didapatkan pada rentang pH yang bervariasi antara 7 sampai 7.7. pH yang bergerak naik turun disebabkan karena pengaruh kemampuan bakteri untuk mengatur kesetimbangan reaksi katalis didalam proses degradasi lignin dan warna. Di dalam biodegradasi lignin dan warna terjadi proses reaksi  $\text{CO}_2$  yang mengakibatkan pH naik, sedangkan proses  $\text{NH}_3$  yang menyebabkan penurunan pH.

#### 2. Suhu Terhadap Proses Activated Sludge

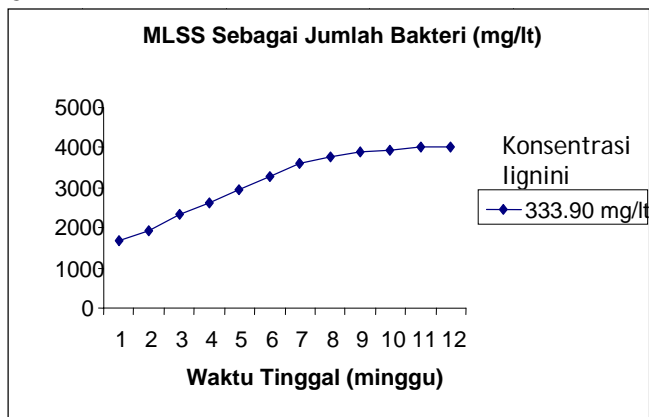




Gambar 9. Hubungan Antara Suhu Dengan Berbagai Waktu Pada Pengolahan Limbah Pencucian Kayu

Pada gambar 9. dapat dijelaskan bahwa suhu bergerak antara 28.4°C sampai 28.5°C dalam pengolahan limbah pencucian kayu. Suhu yang diatur pada tahap proses activated sludge pada minggu ke 10 dan 11 setelah jumlah MLSS yang mewakili jumlah bakteri mencapai fase stationer, dimana bakteri ini sudah dapat dijadikan acuan dalam proses biodegradasi lignin dan warna dalam activated sludge. Hal ini disebabkan oleh suhu ruang yang tidak menentu dan pengaruh adaptasi bakteri dalam penyisihan lignin dan warna. Didapatkan pada rentang suhu antara 28.4°C sampai 28.5°C. Bakteri *Cytophaga* dan *Chitinophaga* merupakan bakteri mesophil karena hidupnya pada suhu 25°C sampai 40°C dan bakteri akan berkembang biak. Faktor yang menyebabkan suhu naik-turun yaitu adanya energi dalam proses activated sludge.

### 3. MLSS Sebagai Jumlah Bakteri



Gambar 10. Hubungan Antara Waktu Tinggal Dengan Konsentrasi lignin Pada Berbagai MLSS Sebagai Jumlah Bakteri

Dapat dilihat dalam gambar 10. bahwa bakteri semakin mengalami kenaikan yang sangat tajam. Dalam hal ini bakteri mulai tumbuh dan beradaptasi dengan limbah, pada waktu tinggal 1 sampai 7 minggu dinamakan fase eksponensial dimana bakteri akan berkembang pesat sesuai dengan bertambahnya waktu dan pada waktu tinggal 8 sampai 12 minggu ini dinamakan fase stationer dimana laju pertumbuhan bakteri sebanding dengan laju kematian bakteri dan tak ada peningkatan jumlah bakteri sehingga pada fase stationer dapat dijadikan acuan bahwa bakteri sudah beradaptasi dengan limbah sehingga dapat dilakukan pengolahan terhadap limbah dalam reaktor activated sludge. Pada minggu ke 10 dan 11 dijadikan acuan proses biodegradasi lignin dan warna dalam activated karena jumlah MLSS yang mewakili bakteri sudah memenuhi kriteria dalam pengolahan limbah.

### 4. KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Dari hasil penelitian dengan menggunakan bakteri pada proses activated sludge, didapatkan efisiensi penyisihan lignin sebesar 97,63 % pada kondisi operasi waktu tinggal 6 jam dengan rasio resirkulasi 0,65 dan efisiensi penyisihan warna sebesar 98,72 % pada kondisi operasi waktu tinggal 6 jam dengan rasio resirkulasi 0,65.
2. Hasil identifikasi bakteri, diketahui 2 jenis bakteri yaitu : bakteri *Cytophaga* dan bakteri *Chitinophaga* yang bekerja pada pH 7 sampai 7.7 dan suhu 28.4°C sampai 28.5°C sehingga mampu mendegradasi lignin dan warna dari limbah pencucian kayu.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anathakrishnan and Viswanathan. *General Animal Ecology*. Second Edition. Macmillan India Limited, 1983.
- Barus, Temala Alexander. *Pengantar Limnology*. Jurusan FMIPA USU. Medan, 2002.
- Benton, A.H and Werner, W.E.. *Field Biology and Ecology*. Third Edition. Tata McGraw Hill Publishing Company Ltd. New Delhi, 1980
- Boon, P.J.. *The Conservation of Fresh water, Temperate Experience in Tropical Context. Perspectives in Tropical Limnology*, pp. 333-344, 1996
- Clark, A.M, dan FEW Rowe, *Monograph of Shallow Water Indo West Pacific Echinoderms* Trustees of British Museum, London. 1971.





SEMINAR NASIONAL TEKNIK KIMIA SOEBARDJO BROTOHARDJONO I.  
Program Studi Teknik Kimia UPN “Veteran” Jawa Timur  
Surabaya, 21 Juni 2012

---

ISSN 1978-0427

